

# Increase of alpha-2/delta-1 subunit of L-type calcium channel in the dorsal root ganglion after sciatic nerve transection

著者	立谷 大介
号	44
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	歯博第753号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00097032">http://hdl.handle.net/10097/00097032</a>

氏 名（本籍）： 立 谷 大 介

学 位 の 種 類： 博 士 （ 歯 学 ）

学 位 記 番 号： 歯 博 第 7 5 3 号

学位授与年月日： 平成 28 年 3 月 25 日

学位授与の要件： 学位規則第 4 条第 1 項該当

研究科・専攻： 東北大学大学院歯学研究科（博士課程）歯科学専攻

学位論文題目： Increase of alpha-2/delta-1 subunit of L-type calcium channel in the dorsal root ganglion after sciatic nerve transection （坐骨神経切断により後根神経節における L 型カルシウムの alpha-2/delta-1 subunit は増加する）

論文審査委員： （主査）教授 熊 本 裕 行  
教授 笹 野 泰 之 教授 市 川 博 之

## 論文内容要旨

By immunohistochemistry, an effect of sciatic nerve transection on distribution of alpha-2/delta-1 subunit of L-type calcium channel was investigated in rat 4th and 5th lumbar dorsal root ganglia (DRG). The immunoreactivity was detected in a half of sensory neurons within the intact DRG (52.2 %). These neurons mostly had small cell bodies. In the ganglion, alpha-2/delta-1 subunit-positive neurons were lightly or moderately stained. However, transection of the sciatic nerve dramatically increased the number of alpha-2/delta-1 subunit-immunoreactive (-IR) neurons in the DRG. Sensory neurons mostly expressed alpha-2/delta-1 subunit-immunoreactivity in the ganglion at 3-28 days after the nerve injury (75.3-79.5%). The IR density of alpha-2/delta-1 subunit in DRG neurons was also elevated by the transection. The number of small neurons with strong staining intensity increased in the injured DRG. Numerous large DRG neurons which were stained moderately or strongly appeared after the treatment. In addition, a double immunofluorescence study demonstrated that almost all (98.7%) of c-Jun activating transcription factor 3 (ATF3)-IR neurons co-expressed alpha-2/delta-1 subunit-immunoreactivity in the injured DRG. However, alpha-2/delta-1 subunit immunoreactivity was relatively infrequent among ATF3-immunonegative neurons (60.3%). The present study indicates that sciatic nerve transection increases protein level of alpha-2/delta-1 subunit in axotomized DRG neurons with small and large cell bodies.

## 審査結果要旨

$\alpha 2 \delta 1$  サブユニットは L 型電位依存性カルシウムチャネル複合体の高分子ポリペプチドサブユニットであり、筋線維および神経細胞に含まれ、細胞内へのカルシウムイオン流入に対して重要な役割をはたしている。本研究では、末梢神経切断後の感覚ニューロンでの  $\alpha 2 \delta 1$  サブユニットの分布を明らかにすることにより、このサブユニットの神経損傷後における機能について検討している。

実験では雄 Wister ラットを計 24 匹用いている。24 匹中 16 匹は左側坐骨神経を切断し、残り 8 匹のうち 4 匹は坐骨神経を露出させただけのシャム群、そして残り 4 匹は無処置群とした。処置後、1 日後、3 日後、7 日後、28 日後にザンボニ固定液による灌流固定を行い、左側の L4 及び L5 の後根神経節を取出し切片を作成している。また  $\alpha 2 \delta 1$  サブユニットを含む感覚ニューロンの細胞体の大きさと染色濃度を調べるための ABC 法による免疫染色を行っている。

この実験により、以下のことが明らかとなっている。①無処置群及びシャム群では、半数の感覚ニューロンに  $\alpha 2 \delta 1$  サブユニットが認められる。②坐骨神経切断 3 日以降、 $\alpha 2 \delta 1$  サブユニット陽性を示す感覚ニューロンの割合は統計学的に有意に増加する (75.3-79.5%)。③神経切断群では小型ニューロン ( $< 1000 \mu m^2$ ) とともに大型ニューロン ( $> 1000 \mu m^2$ ) においても陽性反応が認められる。④無処置群やシャム群では、小型のニューロンは弱或いは中程度の染色濃度を示すが、神経切断群では、多くの小型及び大型ニューロンが強陽性である。また、神経損傷のマーカーの一つとして知られ、ストレス応答性の転写因子である ATF3 との共存を蛍光 2 重染色法により調べたところ、以下のことが明らかとなっている。①無処置群及びシャム群では、ATF3 陽性反応を示す感覚ニューロンは、ほとんど観察されない。②坐骨神経切断 1 日以降、ATF3 陽性を示す感覚ニューロンの割合は増加する (37.5-64.5%)。③坐骨神経切断 3 日以降、ほとんど全ての ATF3 陽性ニューロンは、 $\alpha 2 \delta 1$  サブユニットの免疫反応を示している。

以上の結果から、坐骨神経切断後、 $\alpha 2 \delta 1$  サブユニットの発現がさまざまな大きさのニューロンで増加することが明らかとなっている。また ATF 3 と  $\alpha 2 \delta 1$  サブユニットとの蛍光二重染色により、ほとんどすべての損傷を受けたニューロンに  $\alpha 2 \delta 1$  サブユニットの発現が認められことが示唆される。末梢神経損傷後の  $\alpha 2 \delta 1$  サブユニットの増加は、神経原生疼痛に関連するかもしれない。

本論文は、慢性疼痛のメカニズムに関する理解を大きく前進させるものと評価でき、臨床的にも大きな意義があると判断される。よって本論文は博士（歯学）の学位授与に値するものと認める。